Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen
Vorstand: Prof. Dr. Haffner.

Versuche zur qualitativen und quantitativen Bestimmung kleiner Mengen einiger Lokalanästhetika auf biologischem Wege.

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Zahnheilkunde

einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt

von

ERICH WIDMANN
aus Hamburg

1932

Druck: Buchdruckerei Heinrich Benz in Balingen i. Württ.

Dekan: Prof. Dr. Wolf

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Pulewka

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät Tübingen

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Versuche zur qualitativen und quantitativen Bestimmung kleiner Mengen einiger Lokalanästhetika auf biologischem Wege.

Die vorhandenen Methoden zur Bestimmung kleiner und kleinster Mengen lokalanästhetischer Stoffe sind in vielen Fällen unzulänglich. Eine empfindliche und womöglich für alle oder sehr viele Lokalanästhetika einheitliche Bestimmungsmethode wäre für pharmakologische Untersuchungen, besonders auch auf dem Gebiete der Zahnheilkunde, von Wert.

Bei seinen Versuchen am Mäuseauge beobachtete Dr. Pulewka, daß zahlreiche örtliche Betäubungsmittel — unter ihnen auch solche, deren mydriatische Wirkung bisher nicht bekannt war — auf die Pupille der weißen Maus stark erweiternd wirken. Die Empfindlichkeit des Mäuseauges gegen diese Stoffe ist so groß, daß man bei geeigneter Anwendung schon kleinste Mengen davon durch ihre Pupillenwirkung nachweisen kann. Bei der großen Zahl mydriatisch wirkender Stoffe wäre es wünschenswert, neben der Möglichkeit der quantitativen Bestimmung eines seiner Art nach bekannten Stoffes auch ein Mittel zur qualitativen Unterscheidung verschiedener pupillenerweiternder Substanzen zu besitzen. Daß es eine solche Möglichkeit gibt, soll im folgenden am Beispiel einiger Lokalanästhetika gezeigt werden.

Den Versuchen, die auf Anregung von Herrn Priv.-Doz. Dr. Pulewka unternommen wurden, lag folgende Überlegung zu Grunde: Es ist zu erwarten, daß viele, wenn nicht alle, der in Frage kommenden mydriatisch wirksamen Stoffe sich hinsichtlich ihrer Beziehungen zum Organismus, wie z. B. ihrer Resorbierbarkeit, Verteilung, Zerstörbarkeit, Ausscheidung, pharmakologischen Angriffspunkte u. dergl. verschieden verhalten. Solche Verschiedenheiten könnten

sichtbar gemacht werden, wenn man die für einen bestimmten Grad der Pupillenerweiterung notwendigen Dosen jedes der in Frage kommenden Stoffe bei verschiedenen Applikationsarten wie z. B. nach peroraler, subcutaner, intraperitonealer und intravenöser Einverleibung ermittelt und die gefundenen Größen zueinander in Beziehung bringt. Wenn die von verschiedenen Applikationsstellen aus gleich stark pupillenerweiternden Dosen eines jeden Stoffes in einem bestimmten und für die Substanz charakteristischen Größenverhältnis stehen, so wäre damit eine Möglichkeit zur Unterscheidung der Mydriatica gegeben.

Versuche.

Die Versuche wurden mit folgenden örtlichen Betäubungsmitteln durchgeführt: Cocainum hydrochloricum, Tropacocainum hydrochloricum, Novocain, Alypin und Psicain. Zum Vergleich mit diesen Stoffen wurde ferner das stark wirkende Mydriaticum Atropinum sulfuricum in die Untersuchung mit einbezogen.

Im einzelnen war für die Versuche folgender Weg vorgezeichnet: Es sollten an weißen Mäusen bei direkter Anwendung auf dem Auge (A.) sowie bei intravenöser (iv.), intraperitonealer (ip.) und subcutaner (sc.) Einspritzung gleichstark wirkende Dosen aller der zu prüfenden Stoffe aufgesucht werden. Zu diesem Zwecke wurden nach orientierenden Vorversuchen an einzelnen Mäusen jeweils Gruppen von 4 Mäusen mit der gleichen Dosis des gleichen Mittels bei gleicher Einverleibungsart behandelt und die Pupillenwirkung festgestellt. Durch Variierung der Dosen wurde diejenige Menge ermittelt, die die Pupillen der 4 Tiere im Mittel um das Zwei- bis Dreifache ihrer normalen Werte erweiterte. Diese Menge wird in den Tabellen als „wirksam“ bezeichnet; als „unwirksam“ gilt diejenige Dosis, die bei mindestens 3 von 4 Tieren keine meßbare Pupillenerweiterung mehr erzeugte.

Die zu den Versuchen benutzten Mäuse wurden mit Hafer, Brot, Milch und Wasser gefüttert. Auch in den Pausen zwischen den Beobachtungen wurde den Tieren Nahrung in Form von Hafer und Wasser gereicht, da gefütterte Tiere sich ruhiger verhalten als hungrige, und Unruhe die Pupillenweite beeinflußt. Das Gewicht der Versuchstiere lag zwischen 17 und 23 g. Die Messung der Pupillenweite wurde mit Hilfe einer Präparierlupe, der ein Okularmikrometer eingebaut worden war, vorgenommen. Während der Messung wurde das Mäuseauge mittels einer mit Mattscheibe versehenen Mikroskopierlampe von 40 Watt im Abstande von 15 cm beleuchtet. Die normale Pupillenweite der von mir verwendeten Mäuse lag in den weitaus meisten Fällen zwischen 0,2 und 0,4 mm. Das Volumen der eingespritzten Lösungen lag zwischen 0,3 bis 0,6 ccm je 20 g Maus. Direkt auf dem Auge wurden 0,01 ccm große Tropfen angewendet. Um Fehler der Spritzeneinteilung auszugleichen, wurden die Spritzen durch Wägen des Wasserinhaltes auf der analytischen Waage geeicht, und der Spritzenfehler bei der Injektion in Rechnung gesetzt. Da die Wirkung intravenös injizierter Stoffe nicht nur von ihrer Menge und der Konzentration ihrer Lösungen, sondern auch von der Geschwindigkeit der Injektion abhängen kann, wurde die Dauer der intravenösen Einspritzungen stets auf 8—10 Sekunden bemessen.

Über die Ergebnisse der Versuche wird im folgenden berichtet.

I. Atropinum sulfuricum.

Atropin ist als stark und lange wirkendes Mydriaticum bekannt. Über die Wirkung und Anwendung dieses Alkaloids am Auge des Menschen berichtet u. a. Schultz. [1])

[1]) Schultz, Arch. für Augenheilk. 1900, Bd. 40, S. 125.

Tabelle 1 zeigt das Ergebnis unserer Versuche an der Maus. Neben den Dosen, die die Mäusepupille bei den verschiedenen Anwendungsarten um das Zwei- bis Dreifache ihres normalen Wertes erweiterten, sind auch die gerade noch unwirksamen Dosen angegeben.

Tabelle 1.

Atropinum sulfuricum.		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$
iv.	$3 \cdot 10^{-4}$	$6 \cdot 10^{-4}$
sc.	$4 \cdot 10^{-4}$	$9 \cdot 10^{-4}$
ip.	$4 \cdot 10^{-4}$	$10 \cdot 10^{-4}$

Wie die Tabelle zeigt, ist die Wirkung bei direkter Anwendung auf dem Auge von höherer Größenordnung als bei den anderen Anwendungsarten. Die Unterschiede in der Wirksamkeit bei intravenöser, intraperitonealer und subcutaner Einspritzung sind dagegen sehr gering.

II. Cocainum hydrochloricum.

Die pupillenerweiternde Wirkung des Cocains ist bekannt. Sie beruht nicht wie die des Atropins auf Lähmung der Oculomotoriusenden, sondern wird auf eine peripher angreifende Erregung des Sympathicus zurückgeführt.[1]) Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse der Versuche an der Pupille der weißen Maus.

[1]) Meyer & Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie. 7. Aufl., 1925, S. 201 f.

Tabelle 2.

Cocainum hydrochloricum.		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	$8 \cdot 10^{-6}$	$15 \cdot 10^{-4}$
iv.	0,04	0,06
ip.	0,05	0,09
sc.	0,03	0,09

Auch das Cocain sowie die übrigen Lokalanästhetika wirken bei direkter Anwendung auf dem Auge viel stärker als nach intravenöser, intraperitonealer oder subcutaner Einspritzung, ein Ausdruck des peripheren Angriffs der mydriatischen Wirkung. Die Unterschiede der wirksamen Dosen sind bei den drei Injektionsarten nur gering. Bei subcutaner und intravenöser Anwendung der pupillenwirksamen Gaben traten in einigen Fällen auch schon geringe zentrale Wirkungen des Cocains zutage, doch ist nach Ausweis zahlreicher Versuche, in denen außer Mydriasis keine deutlichen Nebenwirkungen beobachtet wurden, die Pupillenwirkung von den übrigen Giftwirkungen unabhängig.

III. Tropacocainum hydrochloricum.

Tropacocain soll die Pupille garnicht oder nur in geringem Grade erweitern.[1] [2] [3] Tabelle 3 zeigt die Pupillenwirkung bei der Maus.

[1]) Schultz, Arch. Augenheilk. 1900, Bd. 40, S. 138.
[2]) Bach, Pupillenlehre, 1908, S. 245.
[3]) Braun, Die örtliche Betäubung, 1921.

Tabelle 3.

Tropacocainum hydrochloricum.		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	0,003	0,006
iv.	0,2	0,4
ip.	1,0	3,0
sc.	2,0	4,0

Tropacocain wirkt unter den in dieser Arbeit aufgeführten Stoffen auf die Mäusepupille am schwächsten. Die intravenös, intraperitoneal und subcutan wirksamen Dosen erzeugten in einigen — nicht in allen — Versuchen neben der Pupillenerweiterung auch noch Giftwirkungen von Seiten des Zentralnervensystems, die sich teils in Erregungs-, teils in Lähmungserscheinungen äußerten. Nach einer Dosis von 3 mg (intraperitoneal) traten einmal Krämpfe auf.

IV. Alypinum hydrochloricum.

Auch das Alypin gilt als Lokalanästheticum ohne Pupillenwirkung.[1]) Das Ergebnis unserer Versuche an der Maus zeigt Tabelle 4.

Tabelle 4.

Alypinum hydrochloricum.		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	0,001	0,003
iv.	0,05	0,2
sc.	0,2	0,6
ip.	0,2	0,7

[1]) Vergl. Poulsson, Lehrbuch der Pharmakologie, 8. Aufl., 1928, S. 101.

Wie man beim Vergleich dieser Tabelle mit den beiden vorigen erkennt, liegt die Wirkung des Alypins bei allen Anwendungsarten zwischen denen des Tropacocains und des Cocains. Zentrale Giftwirkungen wurden in einigen Fällen nach intravenöser und intraperitonealer Einspritzung der pupillenwirksamen Dosen beobachtet.

V. Psicain.

Auch das Psicain soll beim Menschen keine Pupillenerweiterung hervorrufen.[1]) Die bei der Maus gefundenen Dosen sind aus Tabelle 5 ersichtlich.

Tabelle 5.

Psicain		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	0,0003	0,001
iv.	0,1	0,2
ip.	0,3	1,5
sc.	0,5	3,5

Auf das Mäuseauge gebracht wirkt demnach Psicain noch stärker als die vorher besprochenen Lokalanästhetica. Dagegen nimmt die Wirksamkeit bei den übrigen Einverleibungsarten in der Reihenfolge intravenös, intraperitoneal, subcutan viel stärker ab, als es an den andern Stoffen beobachtet wurde.

Bei den 3 Injektionsarten traten neben der Pupillenwirkung gelegentlich auch zentrale Giftwirkungen auf.

[1]) Klemperer & Rost, Handb. d. allgemeinen und speziellen Arzneiverordnungslehre, Berlin 1929, S. 320.

VI. Novocainum hydrochloricum.

Das Ergebnis der Versuche an der Maus zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6.

Novocainum hydrochloricum.		
Dosis in mg je 20 g Maus.		
	unwirksam	wirksam
A.	0,0003	0,0009
iv.	0,2	0,6
ip.	0,5	1,0
sc.	1,0	3,0

Wie man aus der Tabelle sieht, wirkt Novocain direkt auf dem Mäuseauge noch stärker als Psicain, doch ist der Unterschied sehr gering. Auch hinsichtlich der intraperitonealen und subcutanen Wirkung zeigen Novocain und Psicain nur sehr geringe Unterschiede.

Um einen besseren Vergleich der Pupillenwirkung der einzelnen Stoffe zu ermöglichen, sind in der Tabelle 7 die Versuchsergebnisse nebeneinander gestellt. Die Reihenfolge der Mittel ist nach ihrer Wirksamkeit bei direkter Anwendung auf dem Auge angeordnet. Das Zeichen — bedeutet „unwirksam", + „wirksam".

Tabelle 7.

	Tropacocainum hydrochloricum		Alypin hydrochloricum		Cocain hydrochloricum	
	mg je 20 g Maus.					
	—	+	—	+	—	+
A.	0,003	0,006	0,001	0,003	0,0008	0,0015
iv.	0,2	0,4	0,05	0,2	0,04	0,06
ip.	1,0	3,0	0,2	0,7	0,05	0,09
sc.	2,0	4,0	0,2	0,6	0,03	0,09

Fortsetzung von Tabelle 7.

	Psicain		Novocain hydrochloricum		Atropin sulfuricum	
	mg je 20 g Maus.					
	—	+	—	+	—	+
A.	0,0003	0,001	0,0003	0,0009	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$
iv.	0,1	0,2	0,2	0,6	0,0003	0,0006
ip.	0,3	1,5	0,5	1,0	0,0004	0,001
sc.	0,5	3,5	1,0	3,0	0,0004	0,0009

Wie man aus der Tabelle ersieht, erreicht zwar die Wirksamkeit der Lokalanästhetica bei weitem nicht die des Atropins. Sie ist aber doch so stark, daß die Prüfung am Mäuseauge als empfindlichstes Verfahren zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung dieser Stoffe verwendet werden kann.

Aus der Tabelle ergibt sich weiter, daß die Reihenfolge der Mittel, die sich aus ihrer Wirkungsstärke bei direkter Anwendung der Lösungen auf dem Auge ergibt, keineswegs die gleiche ist, wie wenn man die Stoffe nach ihrer Wirkung bei den drei anderen Applikationsarten anordnen würde. (Nur das Atropin steht als das wirksamste Mydriaticum in jedem Falle vor den örtlichen Betäubungsmitteln.) Demnach ist auch die am Anfang dieser Arbeit erhobene Frage, ob die einzelnen Mydriatica sich durch das Größenverhältnis der von den verschiedenen Applikationsstellen aus gleichstark pupillenwirksamen Dosen von einander unterscheiden lassen, in positivem Sinne zu beantworten. Das wird besonders deutlich, wenn man für jeden Stoff die Werte der bei den verschiedenen Anwendungsarten wirksamen Dosen durch den Wert der auf dem Auge wirksamen Dosis dividiert. Wir erhalten dadurch die auf dem Auge wirksame Dosis als Einheit und drücken die bei den 3 Injektionsarten wirksamen Dosen als das Vielfache der Einheit aus. Das Ergebnis dieses Verfahrens zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8.

	Tropacocain hydrochlor.	Alpin hydrochlor.	Cocain hydrochlor.	Psicain	Novocain hydrochlor.	Atropin sulfur.
A.	1	1	1	1	1	1
iv.	66	66	40	200	660	120
ip.	500	230	60	1500	1100	200
sc.	660	200	60	3500	3300	180

Wie man aus der Tabelle ersieht, sind die Unterschiede der Verhältnisse bei den untersuchten Mitteln fast durchweg so groß, daß sie auch schon bei einer verhältnismäßig geringen Zahl von Versuchen zutage treten können.

Zusammenfassung.

An weißen Mäusen wurden die pupillenwirksamen Dosen des Atropins und der örtlichen Betäubungsmittel Cocain, Tropacocain, Novocain, Alypin und Psicain nach Aufbringen der Lösungen auf das Auge, sowie nach intravenöser, intraperitonealer und subcutaner Einspritzung bestimmt. Aus den Versuchen ergab sich die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung und der qualitativen Unterscheidung dieser Stoffe.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich an dieser Stelle Herrn Priv.-Doz. Dr. Pulewka meinen Dank aussprechen für die freundliche Überlassung des Themas und für die Anregungen während der Bearbeitung des Stoffes.

Lebenslauf.

Am 9. August 1907 wurde ich in Hamburg geboren. Ich verblieb dort bis zu meinem 3. Lebensjahr. Meine Kinder- und Schuljahre verbrachte ich in Balingen (Wttbg.). Nach Absolvierung der Realschule daselbst kam ich auf das Reform-Real-Gymnasium in Hechingen (Hohenz.), wo ich Ostern 1925 die Reifeprüfung ablegte. Im Sommersemester 1925 begann ich das Studium der Zahnheilkunde in Tübingen. Nach 5 Semestern legte ich dort die Vorprüfung ab, studierte weiter in Tübingen, Berlin und Wien, dann zum Schluß wieder in Tübingen, wo ich im Wintersemester 1929/30 die Staatsprüfung bestand. Seit 1930 übe ich in Balingen eine zahnärztliche Praxis aus.